OBTENTION DE MYCÉLIUMS ET DE FRUCTIFICATIONS HYBRIDES ENTRE *DICHOSTEREUM DURUM* ET *D. SORDULENTUM* (BASIDIOMYCETES)

par P. LANQUETIN et J. BOIDIN*

RÉSUMÉ. – Par isolement de conidies uninucléées et par utilisation du phénomène de Buller, nous avons tenté d'identifier les noyaux présents dans les hybrides *D. durum* x *D. sordulentum*. Les descendants de la fructification d'un de ces hybrides ont un comportement sexuel homothallique différent du comportement tétrapolaire des parents.

MOTS CLÉS : Basidiomycètes, *Dichostereum*, Hybride interspécifique.

SUMMARY. – By using isolations of uninucleate conidia and by the use of Buller's phenomenon, we have tried to identify the nuclei present in the hybrid mycelia *D. durum* x *D. sordulentum*. The progeny of the fructification of one hybrid mycelia has a homothallic sexual behaviour different from the tetrapolar behaviour of the parents.

Le genre *Dichostereum* Pilat sensu BOIDIN & LANQUETIN (1977a) est facile à distinguer du genre *Vararia* sensu stricto par ses espèces aux spores subsphériques, amyloïdes et plus ou moins ornées. Il est constitué de champignons tétrapolaires dont les mycéliums haploïdes ont des articles terminaux faiblement cénocytiques et dont les mycéliums dicaryotiques bouclés forment des conidiophores œdocéphaloïdes porteurs de petites conidies uninucléées; pour la plupart d'entre eux, des fructifications ont été obtenues sur milieu gélosé.

Les tests d'intercompatibilité, effectués chaque fois que des cultures étaient disponibles ont permis de montrer l'existence d'au moins 8 espèces de *Dichostereum*. L'une d'elles, d'origine américaine, aujourd'hui appelée *D. sordulentum* (Cooke et Massee) Boidin et Lanquetin, très proche du *D. durum* (Bourd. et Galz.) Pilat européen avait été dénommée provisoirement *Vararia* aff. *dura*

* Laboratoire de Mycologie associé au C.N.R.S., Université Claude Bernard - Lyon I, Bât. 405, 43 Boulevard du 11 Novembre 1918, 69622 Villeurbanne - France.

(LANQUETIN 1973) parce que nous ne disposions pas de culture du *D. durum* dont elle se rapproche étroitement par l'ornementation sporale très fine et le type de dichophyses.

Nous avons déjà indiqué (BOIDIN et LANQUETIN 1980) que si toutes les autres espèces étaient totalement interincompatibles, *D. durum* avait donné naissance à l'apparition de boucles dans un très petit nombre de confrontations avec *D. sordulentum*.

Ces mycéliums dicaryotiques «hybrides» obtenus dans les croisements de deux espèces proches mais différentes, nous offraient pour la 1ère fois la possibilité de tenter une étude d'hybrides interspécifiques chez les Basidiomycètes saprophytes. Dans ce travail seront successivement détaillées l'étude de la croissance et de la constitution nucléaire des dicaryons hybrides ainsi que l'étude de la descendance de l'un d'eux.

I. – OBTENTION DE MYCÉLIUMS DICARYOTIQUES HYBRIDES

Comme nous le souhaitions en 1973 (LANQUETIN p. 174) des cultures monospermes d'une récolte française de *Dichostereum durum* LY 9450 ayant pu être isolées en juillet 1979, des haplontes appartenant aux 4 pôles ont été, en septembre 1979, confrontés avec un représentant de chacun des pôles de *D. sordulentum* LY 6627 (= *V. aff. dura* en 1973).

Les confrontations étaient alors toutes négatives à l'exception de trois croisements : deux d'entre eux montraient localement des boucles et des crochets qui ont disparu après le premier repiquage, mais le troisième : 9450/A_1B_2 n° 6 ■ 6627/A_1B_2 n° 9 était totalement bouclé et ce mycélium restait bouclé après repiquages. Refaite plusieurs fois, cette confrontation a toujours donné un mycélium dicaryotique à boucles constantes, qui envahit totalement la boîte en deux mois. Ce mycélium hybride H_1 étant stable et réobtenu systématiquement, il nous ■ semblé intéressant de voir si d'autres mycéliums hybrides pouvaient être obtenus. A cet effet nous avons effectué le maximum de croisements possibles, compte tenu des cultures dont nous disposions en mycothèque : 12 monospermes de *D. durum* LY 9450 appartenant aux 4 pôles, 1 représentant de chaque pôle de *D. sordulentum* LY 6627, de Louisiane; 2 monoconidiens A et B du *D. sordulentum* LY 6770 (issus de la culture polysperme FP 70855 de Géorgie) et 1 monosperme A du *D. sordulentum* LY 6995 (= G 2395/1 d'Argentine).

84 confrontations ont pu être effectuées, leurs résultats sont réunis dans le tableau I, déjà publié dans BOIDIN et LANQUETIN 1980 (p. 383). Mais ici les cultures porteront les seuls numéros de la mycothèque lyonnaise.

Comme on le voit les résultats sont en grande majorité négatifs. Toutefois dans cinq confrontations notées «c b», les prélèvements sur la ligne de contact des mycéliums ont montré localement des boucles et des crochets, mais après repiquages ces prélèvements ont toujours donné un mycélium sans boucles.

Tableau I

Confrontations de monocaryons du *D. durum* français LY 9450 avec trois *D. sordulentum* américains

c : crochets, b : boucles, H : mycélium hybride bouclé (détails dans le texte)

Confrontations between monosporous cultures of the French *D. durum* LY 9450 and monosporous cultures of three American *D. sordulentum*.

■ : incomplete clamps; b : clamps; H : hybrid clamped mycelium

			DICHOSTEREUM DURUM LY 9450												
			A_1B_1		A_2B_2				A_2B_1		A_1B_2			
	LYn°	N° pôle	1	7	2	3	5	8	9	10	4	6	11	12
DICHOSTEREUM SORDULENTUM	6627	A_1B_1 = 2	c b	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		A_2B_2 = 5	c b	■	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		A_2B_1 = 7	c b	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		A_1B_2 = 9	H 2	H 3	–	–	–	–	–	–	–	H 1	–	–
	6770	A	–	–	–	–	–	–	–	–	–	H 5	–	–
		B	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	6695	A	H 4	c b	–	–	–	–	–	–	–	H 6	–	–

Enfin, de vrais mycéliums dicaryotiques à boucles constantes, appelés H 1 à H 6, ont été obtenus dans six confrontations.

Quelques observations sont à faire sur l'obtention de ces mycéliums hybrides :

H 1 – Dans la confrontation 9450 A_1B_2 n° 6 x 6627 A_1B_2 n° 9, l'hybride H 1 a été obtenu très aisément dans les quatre essais successifs, c'est-à-dire que cette confrontation se comporte exactement comme un croisement de deux monospermes provenant de deux récoltes différentes de la même espèce. Au bout de 6 à 8 semaines, le mycélium dicaryotique couvre entièrement la boîte de la ligne de contact aux extrémités des anciens territoires de chaque haplonte. De plus, ces essais étalés sur 8 mois semblent montrer que la formation de l'hybride n'exige pas une extrême jeunesse des cultures monospermes en présence (dans le dernier essai LY 9450 A_1B_2 = 6 est âgé de 8 mois et LY 6627 A_1B_2 = 9 est âgé de 8 ans.

H 2 – Dans la confrontation 9450 A_1B_1 n° 1 x 6627 A_1B_2 n° 9, l'observation à 6 semaines montre, sur les hyphes de la ligne de contact, de nombreuses boucles et crochets, mais ces boucles ne sont pas constantes et le mycélium situé à l'extrême du territoire des monospermes est totalement dépourvu de boucles. Toutefois un prélèvement effectué sur la ligne de contact donne, après repiquage, une culture H 2 totalement bouclée.

H 3 – Dans la confrontation 9450 A_1B_1 n° 7 x 6627 A_1B_2 n° 9, à trois semaines le mycélium prélevé sur la ligne de contact montre localement de nombreuses boucles, des fausses boucles et des crochets. Les boucles sont observées le plus souvent dans des zones où les hyphes paraissent dégénérées. Toutefois une bouture prélevée sur la ligne de contact donne une culture aux hyphes entièrement bouclées. Observées à 8 semaines, les boîtes contiennent un mycélium totalement dicaryotisé, tant à la ligne de contact qu'aux bords extrêmes de la culture.

H 4 – La confrontation 9450 A_1B_1 n° 1 x 6695/A, âgée de trois semaines est totalement négative. Le monosperme LY 9450/1 forme un mycélium aérien laineux tandis que LY 6695/A est totalement dépourvu de mycélium aérien. A quatre semaines, un mycélium aérien duveteux blanc apparaît sur la ligne de contact, puis il envahit lentement le territoire de LY 6995/A. Ce mycélium est localement très riche en boucles et crochets. A huit semaines il couvre totalement le territoire de LY 6995/A. Les prélèvements effectués sur la ligne de contact et aux extrémités des territoires de chaque haplonte montrent tous des boucles constantes. Ce mycélium dicaryotique est appelé H 4. 7 semaines plus tard, les cultures repiquées sont totalement dépourvues de boucles. H 4 est considéré alors comme un mycélium hybride instable.

H 5 – Dans la confrontation 9450 A_1B_2 n° 6 x 6770/A, âgée de trois semaines, des boucles et des crochets sont observés à la ligne de contact sur des hyphes étroites, non sur les hyphes axiales. La subculture effectuée à ce moment-là donne un mycélium totalement dépourvu de boucles. Mais à 5 semaines, un mycélium aérien se forme sur la ligne de contact, il est bouclé et à huit semaines il a envahi progressivement tout le territoire de 6770/A. Après repiquage, il est totalement bouclé, c'est le mycélium hybride H 5.

H 6 – Dans la confrontation 9450 A_1B_2 n° 6 x 6995/A, les prélèvements sont totalement négatifs à 5 semaines mais à 8 semaines un mycélium aérien lâche apparaît sur la ligne de contact et envahit peu à peu le territoire du monosperme 6995/A qui était totalement dépourvu de mycélium aérien à 5 semaines. Ce mycélium aérien bouclé, appelé H 6, est repiqué, alors que les territoires extrêmes des monospermes sont sans boucles. Huit semaines plus tard, le troisième repiquage du mycélium hybride H 6 s'est révélé totalement dépourvu de boucles. Il s'agit donc d'un mycélium hybride instable. Il est alors en effet, comme le mycélium haploïde, constitué d'hyphes aux articles en majorité uninucléés mais aussi bi- et tri-nucléés, avec des articles terminaux à 2, 3 ou 5 noyaux et des chlamydospores qui en contiennent 3 à 8.

Aux observations précédentes ajoutons que chez *D. durum* et *D. sordulentum*, les confrontations de monospermes appartenant à des pôles complémentaires sont totalement dicaryotisées en moins d'un mois. Il en est de même pour les confrontations entre monospermes de nos différentes souches de *D. sordulentum*, tandis que les quelques confrontations positives obtenues entre *D. durum* et *D. sordulentum* ne sont dicaryotisées qu'après deux mois. Signalons également qu'à l'âge de deux mois, aucune des confrontations *D. durum* x

D. sordulentum ne montre la moindre ligne brune pourtant présente dans toutes les confrontations négatives que nous avons pu observer entre souches incompatibles de *Dichostereum* (cf. LANQUETIN 1973, tab. 1, p. 171). C'est seulement dans les cultures plus âgées, trois à quatre mois, que les confrontations négatives entre *D. durum* et *D. sordulentum* ont révélé au contact des mycéliums soit une fine ligne brune soit le plus souvent des fragments de ligne brune. Par contre, les confrontations ayant donné naissance aux mycéliums hybrides H 1 à H 6 n'ont jamais montré de ligne ou fragments de ligne brune.

Croissance des mycéliums hybrides stables

Après une étude comparée, sur milieu de Nobles, des mycéliums *D. durum* LY 9450, *D. sordulentum* LY 6627, 6770 et 6995 et des mycéliums hybrides stables H 1 - H 2 - H 3 - H 5, on constate que pour *D. durum* et les trois souches de *D. sordulentum* les mycéliums remplissent totalement les boîtes à 3 semaines tandis que les mycéliums hybrides couvrent les boîtes en cinq mais le plus souvent six semaines. Leur vitesse de croissance est donc nettement inférieure à celle des deux espèces qui les composent. Leur pigmentation est également bien inférieure : tandis que le mycélium de *D. durum* âgé de 6 semaines est beige foncé à cannelle pâle, et celui de *D. sordulentum* faiblement crème alutacé, les mycéliums hybrides sont totalement blancs sauf H 2 et H 3 qui se teintent très légèrement d'isabelle pâle avec le temps.

Toutes les cultures étant placées dans les mêmes conditions de température et d'éclairement, seuls les mycéliums de *D. durum* fructifient aisément au bout de 4 à 5 semaines, ceux de *D. sordulentum* fructifièrent en 1972 au bout de 8 semaines mais semblent avoir perdu ce pouvoir. Parmi les mycéliums hybrides, seul H 5 a donné des petites plages fructifiées dans des cultures âgées de trois mois à trois mois et demi.

Oxydases : comme leurs constituants, tous les hybrides donnent une forte réaction sur les milieux à l'acide gallique et au gaïacol (sur ce dernier les boutures rougissent instantanément), une réaction nulle vis-à-vis du paracrésol. Mais sur le milieu à la tyrosine, la réaction négative des mycéliums hybrides est identique à celle de *D. durum*, car *D. sordulentum* donne toujours une réaction positive.

Cytologie : les mycéliums H 1, H 2, H 3 et H 5 sont constitués d'hyphes aux articles régulièrement binucléés et bouclés; ils forment des conidiophores porteurs de conidies uninucléées.

Type de conidies : dans les mycéliums hybrides, nous avons observé les deux types de conidies, ovoïdes à paroi mince (type *D. sordulentum*) et sphériques à paroi épaisse (type *D. durum*), avec le plus souvent une prédominance des conidies ovoïdes.

L'étude des mycéliums issus de ces conidies haploïdes nous a semblé un moyen commode pour identifier les noyaux présents dans les dicaryons hybrides obtenus.

II. – CONSTITUTION NUCLÉAIRE DES MYCÉLIUMS DICARYOTIQUES HYBRIDES

ÉTUDE DE H 1 : *D. durum* 9450 $A_1 B_2$ n° 6 x *D. Sordulentum* 6627 $A_1 B_2$ n° 9

De l'eau stérile est versée délicatement sur de jeunes cultures, elle entraîne avec elle les conidies qui sont ensuite dispersées sur milieu de Nobles.

Dans une première tentative, 100 germinations très jeunes sont prélevées après 3 jours : 5 seulement se développent.

Dans un deuxième essai, les prélèvements sont effectués plus tardivement à 8 jours. On observe alors des germinations un peu développées et d'autres très petites. 100 prélèvements variés sont effectués. Parmi les petites germinations, 40 sont repérées (au moyen de petits carrés dessinés sur la gélose à l'aide de l'aiguille) mais non prélevées afin de pouvoir les surveiller en place; aucune ne s'est développée par la suite.

Sur les 100 prélèvements, 81 se sont développés; observés au bout de 10 jours, ils sont tous constitués d'hyphes sans boucles, montrant de nombreuses chlamydospores et des conidiophores produisant des conidies ovoïdes du type *D. sordulentum*. Tout laisse à penser que nous avons isolé le noyau *D. sordulentum* 6627 $A_1 B_2$ n° 9, ce que nous avons vérifié en étudiant le :

Comportement des monoconidiens H 1

30 monoconidiens H 1 ont été confrontés avec des monocaryons complémentaires des monospermes constituant l'hybride. C'est-à-dire avec 9450 $A_2 B_1$ n° 9 et 6627 $A_2 B_1$ n° 7. Tous se révèlent compatibles avec 6627 $A_2 B_1$ n° 7 et totalement incompatibles avec 9450 $A_2 B_1$ n° 9.

Le monoconidien n° 11 a été confronté plusieurs fois avec les 4 pôles 6627 et avec les 2 monospermes 9450 $A_2 B_1$ n° 9 et n° 10, seul le monocaryon 6627 $A_2 B_1$ = 7 est dicaryotisé.

22 monoconidiens ont été également confrontés avec 9450 $A_1 B_2$ = 6 pour tester la capacité de ces noyaux «*sordulentum*» à refaire des hybrides avec *D. durum*. Sur les 22, 11 monoconidiens H 1 refont un mycélium hybride dicaryotique en présence de 9450 $A_1 B_2$ = 6. Mais dans les confrontations effectuées avec le monosperme 9450 n° 11 appartenant également au pôle $A_1 B_2$, aucun mycélium hybride n'est apparu.

En résumé, les conidies haploïdes isolées contenaient le noyau de *D. sordulentum*; elles germent en donnant un mycélium dont le comportement est identique à celui du monosperme LY 6627 $A_1 B_2$ = 9. Mais, contrairement à notre espoir, par l'isolement des conidies nous n'avons pas obtenu les deux noyaux constituant le mycélium hybride. Seule deux germinations ont développé un mycélium porteur de conidies rondes type *D. durum*, très vite elles ont montré quelques boucles, puis un mycélium totalement bouclé, alors que 80 monoconidiens d'une culture de *D. durum* sont toujours restés dépourvus de boucles.

Pour tenter de mettre en évidence le noyau de *durum* contenu dans le mycélium H 1 nous avons étudié le comportement du mycélium hybride en phénomène de Buller face à divers monocaryons de *D. durum* et de *D. sordulentum.*

Comportement du mycélium hybride H 1 en phénomène de Buller*

	à 2 mois	à 3 mois
H 1 x 9450 A_1B_1 = 7	– – –	– – +
H 1 x 9450 A_2B_2 = 8	– – -	- – –
H 1 x 9450 A_2B_1 = 9	+ + +	
H 1 x 9450 A_2B_1 = 10	– – – –	– – – +
H 1 x 9450 A_1B_2 = 11	– + +	– + +
H 1 x 6627 A_1B_1	-	
H 1 x 6627 A_2B_2	– –	
H 1 x 6627 A_2B_1	– –	
H 1 x 6627 A_1B_2	– –	
H 1 x 6995 / A	-	– à 5 mois
H 1 x 6770 / B	–	– à 5 mois

Dans ces confrontations de type di-mon. tout se passe comme si le noyau *D. sordulentum* était incapable de dicaryotiser le monocaryon de *D. sordulentum* complémentaire alors que le noyau de *durum* «bulleriserait» son complémentaire. A noter cependant que si le noyau *D. durum* de H 1, A_1B_2 = 6 dicaryotise très bien son complémentaire n° 9, il ne dicaryotise qu'une fois sur 4 et très tard son autre complémentaire n° 10 alors qu'il aurait en outre dicaryotisé après un délai plus ou moins long les noyaux de *durum* A_1B_1 = 7 et A_1B_2 = 11, ce dernier appartenant à son propre pôle; dans cette hypothèse, le noyau de *durum* serait modifié.

Une autre hypothèse serait de considérer ces derniers dicaryons comme dus à une réhybridation par passage du noyau de *sordulentum*; option difficile à soutenir puisque ce noyau n'a pas pu «bullériser» son propre pôle complémentaire.

ÉTUDE DE H 2 : *D. durum* 9450 A_1B_1 n° 1 x *D. sordulentum* 6627 A_1B_2 n° 9

Après dispersion des conidies de la culture H 2, 12 prélèvements sont effectués à deux jours et 28 prélèvements à six jours. Sur ces 40 isolements, 24 seulement se sont développés en donnant un mycélium dépourvu de boucles et formant des conidiophores porteurs de conidies ovoïdes de type *D. sordulentum.*

Tout de suite après la récupération de ses conidies pour les dispersions la culture H 2 est repiquée. Elle forme alors un mycélium où l'on observe une forte

* Dans l'expression de nos résultats : chaque signe de la 1ère colonne correspond à une confrontation et chaque signe de la 2ème colonne indique, dans le même ordre, le devenir de ces mêmes confrontations.

proportion de conidies rondes type *D. durum*. Une nouvelle dispersion est tentée dans l'espoir d'isoler un deuxième type de monoconidiens. Mais les 67 monoconidiens obtenus sur 67 prélèvements se révèlent une fois encore formés d'hyphes sans boucles portant des conidiophores à conidies ovoïdes. Comme pour H 1 tout se passe comme si les conidies rondes même abondantes ne germaient pas.

Comportement des monoconidiens de H 2

30 monoconidiens de H 2 ont été confrontés avec :

1) LY 9450 A_2B_2, n° 2 et n° 3 : monospermes complémentaires du monocaryon *D. durum* constituant l'hybride H 2. Les 60 confrontations restent négatives.

2) LY 6627 A_2B_1 n° 7 : (seul monosperme de type A_2B_1 conservé en collection depuis 1972) complémentaire du monosperme de *sordulentum* constituant l'hybride H 2. Les 30 confrontations sont positives sur la ligne de contact et les boucles se maintiennent en subcultures; les mycéliums sont irrégulièrement dicaryotisés, parfois totalement, parfois seulement d'un côté et le plus souvent celui du monosperme 6627.

3) avec 9450 A_1B_1 n° 1 (pour tester la capacité des monoconidiens à refaire des hybrides). Ici, 18 confrontations sur 30, forment un mycélium dicaryotique à la ligne de contact seulement, les extrêmes ne sont jamais dicaryotisés. Le mycélium dicaryotique obtenu se maintient bouclé dans les subcultures.

Les monoconidiens de H 2 possèdent donc tous le noyau de *sordulentum* LY 6627 A_1B_2 = 9, compatible avec 6627 A_2B_1 = 7 et capable, dans un peu plus de la moitié des confrontations, de reformer avec 9450 A_1B_1 = 1, un mycélium hybride identique à H 2.

Comportement du mycélium hybride H 2 confronté en phénomène de Buller avec les monospermes complémentaires des monocaryons constituants H 2 et avec d'autres monospermes de *durum* et de *sordulentum*.

	à 2 mois	à 5 mois
H 2 x 6627 A_2B_1 n° 7	–	–
H 2 x 6770 / A	–	–
H 2 x 6995 / A	–	–
H 2 x 9450 A_2B_2 n° 2	+	
H 2 x 9450 A_2B_2 n° 3	+	
H 2 x 9450 A_2B_2 n° 5	+	
H 2 x 9450 A_2B_1 n° 9	– – – –	+ + + –
H 2 x 9450 A_2B_1 n° 10	– –	– (+) localement
H 2 x 9450 A_1B_2 n° 6	–	(+)

Le résultat de ces confrontations montre la présence dans le dicaryon H 2 du noyau *D. durum* 9450 A_1B_1 = 1. En outre on constate que le noyau de

sordulentum présent dans H 2 puisqu'isolé dans les monoconidiens, ne réagit pas dans les confrontations di-mon. avec d'autres monospermes de *D. sordulentum* et on s'explique mal l'apparition tardive des mycéliums dicaryotiques dans les confrontations di-mon. avec les monospermes *durum* n° 6 - 9 et 10. Certes on aurait pu penser que le noyau «*sordulentum*» de H 2 réagissait en face de certains noyaux «*durum*» pour former des mycéliums dicaryotiques hybrides mais, une fois encore, cette hypothèse est-elle plausible si le noyau «*sordulentum*» ne réagit pas en phénomène de Buller ?

ÉTUDE DE H 3 : 9450 $A_1 B_1$ n° 7 x 6627 $A_1 B_2$ n° 9

Sur 50 monoconidiens isolés, 27 seulement se sont développés. Ils sont sans boucles et semblent ne former que des conidies ovoïdes.

Comportement des monoconidiens H 3

Ils ont été confrontés avec :

1) 2 monospermes complémentaires du monosperme *D. durum* ayant formé l'hybride H 3, 9450 $A_2 B_2$ = 2 et 9450 $A_2 B_2$ = 3. Les 54 confrontations sont restées négatives.

2) avec le monosperme 6627 $A_2 B_1$ = 7, monosperme complémentaire du monosperme 6627 $A_1 B_2$ = 9 ayant formé l'hybride H 3. Ici les 27 confrontations sont positives. Elles sont irrégulièrement dicaryotisées, parfois totalement, parfois d'un côté seulement et plus fréquemment du côté du monosperme LY 6627 (culture pourtant bien plus âgée que les monoconidiens).

Les monoconidiens H 3 possèdent donc tous le noyau de *sordulentum* LY 6627 $A_1 B_2$ = 9 compatible avec le pôle complémentaire LY 6627 $A_2 B_1$ = 7.

3) Ils ont été confrontés également avec LY 9450 $A_1 B_1$ = 7 pour tester leur aptitude à reformer un mycélium dicaryotique hybride identique à H 3. Dans 20 confrontations sur 27, il apparaît sur la ligne de contact un mycélium dicaryotique qui se maintient en subcultures mais ne dicaryotise jamais les extrêmes.

En résumé, tous les monoconidiens isolés possèdent le noyau de *D. sordulentum* LY 6627 $A_1 B_2$ n° 9 et plus des deux tiers sont capables de reformer un mycélium hybride dicaryotique identique à H 3.

Comportement du mycélium H 3 confronté en phénomène de Buller avec des monospermes complémentaires des haplontes constituants H 3, et avec d'autres monospermes de *sordulentum*.

	à 2 mois	à 5 mois
H 3 x 6627 $A_2 B_1$ n° 7	–	–
H 3 x 6770 / A	–	–
H 3 x 6995 / A	–	–
H 3 x 9450 $A_2 B_2$ n° 5	+	

	à 2 mois	à 5 mois
H 3 x 9450 A_2B_2 n° 8	+	
H 3 x 9450 A_2B_2 n° 2	+	

Les confrontations avec *D. durum* sont totalement positives au bout de deux mois.

Des confrontations avec *D. sordulentum* 6627 A_2B_1 n° 7 et les autres monospermes de *sordulentum* LY 6770/A et LY 6995/A ont été répétées et suivies pendant 5 mois : les résultats sont toujours restés négatifs.

En phénomène de Buller, le noyau de *durum*, (9450 A_1B_1 n° 7) de H 3 semble seul pouvoir dicaryotiser des monospermes complémentaires.

D'autres confrontations ont été tentées avec d'autres pôles de *D. durum*

	à 2 mois	à 3 mois
H 3 x 9450 A_1B_2 n° 6	– (+)	– +
H 3 x 9450 A_1B_2 n° 11	– +	– +
H 3 x 9450 A_2B_1 n° 9	– –	– +
H 3 x 9450 A_2B_1 n° 10	–	– –

Comme avec les hybrides H 1 et H 2, les confrontations di-mon. si elles sont observées tardivement permettent d'enregistrer des résultats plus ou moins positifs avec les pôles non complémentaires du noyau de *durum* constituant H 3.

ÉTUDE DE H 4 : 9450 A_1B_1 n° 1 x 6995/A

Après 3 repiquages, ce mycélium hybride alors âgé de deux mois a totalement perdu ses boucles. 74 cultures monoconidiennes ont cependant été isolées. Toutes développent un mycélium aux hyphes dépourvues de boucles formant des conidiophores porteurs de conidies rondes type *D. durum*.

Comportement des monoconidiens de H 4 débouclé.

Étant donné la présence de conidies rondes on pouvait penser que seul le noyau *D. durum* 9450 A_1B_1 subsistait dans la culture H 4 débouclée et que tous les monoconidiens isolés possédaient ce noyau. Pour vérifier cette hypothèse, 30 monoconidiens ont été confrontés avec :

1) deux monospermes *D. durum* complémentaires de 9450 A_1B_1, soit 9450 A_2B_2 = 2 et 9450 A_2B_2 = 8.

2) le monosperme 6995/A pour voir s'ils pouvaient réformer des mycéliums hybrides identiques à H 4.

Les 90 confrontations sont restées totalement négatives. Les monoconidiens n'ont donc pas le noyau de *durum* et ils doivent alors posséder le noyau de *sordulentum* 6995/A. Comme nous n'avons pas de monosperme complémentaire de 6995/A, nous avons pallié cette absence en confrontant 10 monoconidiens

H 4 avec chacun des pôles de *D. sordulentum* LY 6627. Les 40 confrontations positives permettent d'affirmer que les monoconidiens de H 4 débouclé possèdent le noyau de *sordulentum*. 6995/A compatible avec les 4 pôles d'une autre souche géographique de *D. sordulentum*. Ces monoconidiens, possédant le noyau «*sordulentum*» mais produisant des conidies rondes type «*durum*», nous ont conduit à émettre l'hypothèse qui consistait à considérer le mycélium H 4 débouclé comme un mycélium resté cependant hétérocaryotique où coexistaient les deux types de noyaux devenus incapables de former des boucles.

Pour vérifier l'éventuelle présence du noyau de *durum*, le mycélium hybride H 4 débouclé a été confronté avec des monospermes complémentaires du noyau de *durum* $A_1 B_1$ constituant l'hybride soit :

H 4 x 9450 $A_2 B_2$ n° 2
H 4 x 9450 $A_2 B_2$ n° 3
H 4 x 9450 $A_2 B_2$ n° 5
H 4 x 9450 $A_2 B_2$ n° 8

Après cinq mois, ces confrontations étant restées négatives, le mycélium H 4 débouclé a été confronté avec 6770/A et 6770/B d'une autre souche de *D. sordulentum*. Dans les deux confrontations des boucles sont apparues mais l'observateur avait de quoi rester perplexe car il a vu se former sur la bouture H 4, et non à la ligne de contact, un mycélium aérien blanc qui envahit progressivement le territoire du monosperme B. Seul le mycélium aérien est bouclé, les prélèvements effectués en profondeur restent négatifs. Dans la confrontation avec 6770/A, le mycélium aérien blanc, bouclé, reste cantonné sur le territoire de H 4 et ne dicaryotise pas le mycélium 6770/A.

De telles observations ont conduit à réexaminer les repiquages de H 4 gardés en mycothèque: tous présentaient alors un mycélium aérien blanc totalement bouclé et binucléé alors, qu'au début, ces repiquages n'avaient pas de mycélium aérien. Nous ne savions pas quel facteur avait pu déclencher le «rebouclage» du mycélium hybride H 4, mais il était désormais possible d'étudier ce mycélium hybride H 4 rebouclé.

Ses conidies sont rondes en grande majorité mais il y a aussi un petit nombre de conidies ovoïdes indiscutables. 4 à 6 jours après la dispersion des conidies, 27 prélèvements ont été effectués, 23 se sont bien développés. Observés à 10 jours, 15 sont bouclés et 8 restent dépourvus de boucles. Le comportement de ces derniers est résumé dans le tableau ci-après.

Comportement des monoconidiens de H 4 après son rebouclage

Nombre de monoconidiens	x *D. sordulentum*	résultats à 6 semaines
8	x 6627 $A_1 B_1$	+ + + + + + + +
8	x 6627 $A_2 B_2$	+ + + + + + + +
[illegible]	x 6627 $A_2 B_1$	+ + + + + +
8	x 6627 $A_1 B_2$	+ + + + + + + +
8	x 6770 / A	+ + + + + + + +

8	x *D. durum*	à 2 mois	à 6 mois
8	x 9450 A_2B_2 n°5	− − − − − − − −	− − − − − − − − +
8	x 9450 A_2B_2 n°3	− − − − − − − − − −	− − − − − − − − −
8	x 9450 A_2B_2 n°8	− − − − − − − − − −	− − − −
8	x 9450 A_1B_2 n°6	− − − − − − −	− − − − ∓ ∓ ∓ +
8	x 9450 A_2B_1 n°9	− − − − − − − − −	+

Précisons qu'avec *D. sordulentum*, les très nombreux résultats positifs, apparus assez rapidement sur la ligne de contact ont toujours été assortis d'une dicaryotisation lente et incomplète, s'effectuant de préférence du côté des monospermes *sordulentum*, les monoconidiens H 4 n'étant le plus souvent pas dicaryotisés.

Avec *D. durum* les résultats positifs exceptionnels (6 sur 40) sont apparus très tardivement. Les 3 confrontations (∓) ont montré localement des boucles et les 3 confrontations positives se sont révélées totalement bouclées.

Les monoconidiens de H 4 qui donnent rapidement des boucles avec les différents monospermes de *sordulentum* possèdent donc tous le noyau de *sordulentum* 6995/A, capable dans quelques cas de former des myceliums hybrides avec des noyaux de *durum*. A noter que ces myceliums hybrides apparaissent après plusieurs mois, avec formation d'un mycelium aérien lâche sur la ligne de contact, qui envahit ensuite progressivement le territoire des monoconidiens (auparavant dépourvu de mycelium aérien). Ces images rappellent beaucoup les confrontations ayant donné naissance aux myceliums hybrides H 4, H 5 et H 6. Enfin ajoutons que tous les monoconidiens de H 4 sont tyrosine +++, caractère spécifique de *D. sordulentum*.

Comme pour les hybrides H 1, H 2 et H 3, l'étude des monoconidiens H 4 permet d'affirmer la présence du noyau de *sordulentum* dans le dicaryon hybride H 4.

Comportement du mycélium hybride H 4 rebouclé confronté en phénomène de Buller.

	à 2 mois		à 4 mois		[illegible]	
H 4 x 9450 A_1B_1 n° [illegible]	∓	∓	+	+	[illegible]	+ t
H 4 x 9450 A_1B_1 n° 7	−	−	−		+ t	+ t
H 4 x 9450 A_2B_2 n° 2	+ t		+ t			
H 4 x 9450 A_2B_2 n° 3	+ t		+ t			
H 4 x 9450 A_2B_2 n° 5	+ l	+ t	+ t	+ Fr.		
H 4 x 9450 A_2B_2 n° 8	+	+	+ t	+ t		
H 4 x 9450 A_2B_1 n° 9	+ l	+ t	+ t	+ t		
H 4 x 9450 A_2B_1 n°10	+ t	−	+ t	+ l		
H 4 x 9450 A_1B_2 n° 6	+ l	+ l	+ t	+ t		
H 4 x 9450 A_1B_2 n°11	−	−	−	+ t	+ t	+ Fr

	à 2 mois			à 5 mois		
H 4 x 6770/A	–	∓	∓	–	+ 1	
H 4 x 6770/B	–	+ 1	+ 1	–	+ 1	+ 1
H 4 x 6627 A_1B_1	–	–	–	–	–	–
H 4 x 6627 A_2B_2	–	–	+ 1	–		+ 1
H 4 x 6627 A_2B_1	+ 1	+ 1	+ 1	+ 1		
H 4 x 6627 A_1B_2	–	–	+ 1	–		+ 1

∓ : quelques boucles; + l : boucles seulement observées dans une zone limitée à l'arrière de l'implant monosperme; + t : bouclés totalement jusqu'aux bords extrêmes de la culture monosperme; + Fr : fructification observée avec basides bouclées.

Les résultats enregistrés avec le mycélium hybride H 4 rebouclé sont tout à fait conformes à ceux que nous avons obtenus avec H 1, H 2, H 3. En confrontation di-mon., les noyaux de *durum* sont bien dicaryotisés.

ÉTUDE DE H 6 : 9450 A_1B_2 n° 6 x 6995/A

Comme le mycélium hybride H 4, après 3 repiquages le mycélium hybride H 6 a totalement perdu ses boucles à l'âge de deux mois. Toutefois 20 monoconidiens ont été isolés à partir de cette culture débouclée, tous sont formés d'hyphes sans boucles et portent des conidiophores produisant en grande majorité des conidies rondes, mais on peut cependant voir aussi quelques conidies ovoïdes.

Comportement des monoconidiens H 6

Supposés posséder le noyau de *durum* 9450 A_1B_2 = 6, ils ont été confrontés avec :

1) les monospermes *D. durum* 9450 A_2B_1 = 9 et A_2B_1 = 10 appartenant au pôle complémentaire.

2) avec 6995/A afin de voir s'ils pouvaient reformer un mycélium hybride identique à H 6.

Les 40 confrontations avec *D. durum* et les 20 confrontations avec *D. sordulentum* 6995/A sont restées négatives.

Les monoconidiens H 6 se comportent comme s'ils n'avaient pas le noyau de *durum*, ils doivent donc posséder le noyau de *sordulentum* 6995/A.

5 monoconidiens H 6 ont été confrontés avec les 4 pôles de *D. sordulentum* LY 6627 et avec deux monocaryons LY 6770/A et 6770/B. Les 30 confrontations sont positives entre 1 mois et 2 mois, et le mycélium dicaryotique obtenu se maintient bouclé en subcultures.

Conclusion : les monoconidiens de H 6, se comportent comme ceux de H 4, ils possèdent le noyau de *sordulentum* LY 6995/A naturellement compatible

avec les monospermes d'autres souches de cette espèce.

Mais à l'heure actuelle, contrairement au mycélium H 4, H 6 n'a montré aucune tentative de rebouclage permettant d'affirmer la présence du noyau *D. durum*.

Pour les hybrides étudiés précédemment, le noyau de *durum* ne s'est jamais manifesté dans les confrontations effectuées avec les cultures monoconidiennes mais seulement dans celles faisant intervenir le mycélium hybride lui-même. Pour cette raison le mycélium H 6 débouclé a été confronté avec différents monospermes de *sordulentum* et de *durum*.

Confrontations du mycélium H 6 débouclé avec *D. sordulentum* n° LY 6627 A_1B_1, A_2B_2, A_1B_2, A_2B_1 et LY 6770/A, 6770/B.

Toutes les confrontations, effectuées en double, sont positives au bout de deux mois, mais seuls les monospermes de *sordulentum* sont dicaryotisés, le mycélium H 6 reste dépourvu de boucles. Les cultures ont un aspect homogène avec un mycélium aérien pratiquement nul et un milieu de culture bien bruni.

Confrontations du mycélium H 6 débouclé avec *D. durum*.

– avec 9450 A_1B_1 n° 1 et n° 7 : les confrontations effectuées en double sont positives après 2 à 3 mois; un mycélium aérien se forme, qui, du monosperme 9450, envahit progressivement le territoire de H 6.

– avec 9450 A_2B_2 n° 2, n° 3, n° 5 et n° 8 : les confrontations restent négatives à 7 mois. Quelques boucles ont été observées après 8 mois dans les confrontations avec les n° 5 et n° 8.

– avec 9450 A_2B_1 n° 9 : 1 confrontation sur deux est positive après 5 mois; avec n° 10 : à 4 mois, toutes les confrontations sont négatives, mais après 6 mois, 1 confrontation sur trois se révèle positive et après 8 mois une autre montre des boucles partout.

– avec 9450 A_1B_2 n° 11 : sur 3 confrontations, 1 seule a montré quelques hyphes bouclées après 5 mois; avec n° 6 : 2 confrontations sur 3 se révèlent positives après 2 et 3 mois.

Conclusion : Ces résultats laissent penser que dans le mycélium H 6 débouclé, le noyau de *durum* a disparu et que reste seulement le noyau *D. sordulentum* compatible avec tous les monocaryons des autres souches *D. sordulentum* et susceptible, dans 9 cas sur 23, de refaire des mycéliums dicaryotiques hybrides avec certains monospermes *D. durum*, notamment les n° 1 - 7 - 6 qui ont toujours manifesté la plus grande aptitude à s'hybrider.

Néanmoins, il reste à comprendre pourquoi, s'ils ne possèdent que le noyau de *sordulentum*, les monoconidiens de H 6 forment les deux types de conidies avec parfois une majorité de conidies rondes.

ÉTUDE DE H 5 : 9450 A_1B_2 n° 6 x 6770/A

A partir du mycélium H 5, 80 monoconidiens furent isolés. 79 se sont développés; les cultures monoconidiennes d'aspect opaque, blanchâtre, pratique-

ment dépourvues de mycélium aérien, montrent toutes des conidies ovoïdes rares et leurs hyphes restent sans boucles.

Comportement des monoconidiens de H 5

25 monoconidiens ont été croisés avec :

– le monosperme 9450 A_2B_1 = 9, complémentaire du monosperme *D. durum* entrant dans la formule de H 5

– un monosperme 6995/A appartenant à une autre souche de *D. sordulentum*.

De plus 15 monoconidiens H 5 ont été confrontés avec :

– un monoconidien 6770/13, fraîchement réobtenu à partir du polysperme *D. sordulentum* 6770 et complémentaire de 6770/A.

Les 25 confrontations avec *D. durum* sont restées négatives tandis que les 40 confrontations avec *D. sordulentum* se sont révélées nettement positives. Notons seulement que si la dicaryotisation des monoconidiens H 5 est totale, celle des monocaryons 6995/A et 6770/13 est exceptionnelle.

Ces résultats montrent que c'est encore le noyau *D. sordulentum* qui est obtenu par le biais des dispersions de conidies. Nous avions déjà constaté à plusieurs reprises (LANQUETIN 1973 p. 185) le passage préférentiel dans les conidies d'un seul type de noyau du dicaryon. Ce phénomène reste encore à expliquer.

Pour tenter d'isoler le second noyau du dicaryon H 5, nous avons eu alors recours à l'étude des néohaplontes de H 5.

Étude des néohaplontes de H 5

Après un séjour sur milieu nutritif gélosé additionné d'extrait sec de bile (Merck) à la dose de 1,5 %, le mycélium H 5 apparaît totalement dépourvu de boucles et de mycélium aérien, donc de conidies. Il est broyé en milieu liquide pendant deux minutes et les fragments de mycélium sont dispersés. Dans le premier essai, sur 50 jeunes pousses prélevées, une seule s'est développée, elle était bouclée. Une deuxième tentative a permis 30 prélèvements dont 13 se sont bien développés, un seul montrait des conidies rondes, il s'est bouclé, les 12 autres à conidies ovoïdes sont restées sans boucles. Ils ont été confrontés avec le monosperme *D. durum* 9450 A_2B_1 n° 9 et le monosperme *D. sordulentum* 6627 A_1B_1 n° 2. Toutes les confrontations avec *D. durum* ont été négatives tandis que celles avec *D. sordulentum* étaient positives.

Ces résultats montrent que les néohaplontes possèdent tous le noyau de *sordulentum* comme les monoconidiens.

Comportement du mycélium H 5 confronté en phénomène de Buller

1) avec des monospermes de *D. sordulentum*

	Confrontations observées à 2 mois	Confrontations observées à 5 mois
H 5 x 6627 A_1B_1 n° 2	– – – –	– –
H 5 x 6627 A_2B_2 n° 5	– – – qq.+	– – +t
H 5 x 6627 A_2B_1 n° 7	– – – –	– – – –

	Confrontations observées	
	à 2 mois	à 5 mois
H 5 x 6627 $A_1 B_2$ n° 9	– – –	– –
H 5 x 6995/A	– –	– –

Donc une seule confrontation sur 18 se révèle partiellement positive à 2 mois, et sur 14 confrontations di-mon. réobservées à 5 mois, cette même et seule confrontation devient nettement positive jusqu'à l'extrême bord du territoire de l'haplonte. Il s'agit probablement de la formation d'un mycélium hybride dicaryotique 9450 $A_1 B_2$ n° 6 x 6627 $A_2 B_2$ n° 5.

2) avec des monospermes de *D. durum*

	Confrontations observées	
	à 3 mois	à 5 mois
H 5 x 9450 $A_2 B_1$ n° 9	+Fr. +Fr. +Fr. +	+ + + +
H 5 x 9450 $A_2 B_1$ n° 10	– – – –	+ + – –
H 5 x 9450 $A_1 B_1$ n° 1	– –	– –
H 5 x 9450 $A_1 B_1$ n° 7	– – – qq.+	– – – +1 et cr
H 5 x 9450 $A_2 B_2$ n° 3	– – – –	– – – –
H 5 x 9450 $A_2 B_2$ n° 2	– –	+ +
H 5 x 9450 $A_2 B_2$ n° 5	– –	∓ ∓
H 5 x 9450 $A_2 B_2$ n° 8	– –	– ∓ (avec petite zone +)
H 5 x 9450 $A_1 B_2$ n° 11	– – –	n'ont pu être conservées
H 5 x 9450 $A_1 B_2$ n° 6	– +l +t +t	+t +t +t

On comprend les résultats franchement positifs avec le pôle $A_2 B_1$ complémentaire du monosperme *D. durum* ayant formé H 5, mais les résultats obtenus avec les autres pôles sont assez surprenants et appellent quelques commentaires.

– Avec les monospermes $A_1 B_1$ n° 1 et 7 : à trois mois sur 6 confrontations, H 5 a formé une fois seulement, et localement, des boucles et des crochets qui, après 5 mois n'ont toujours pas envahi la culture

– Avec les monospermes $A_2 B_2$, n° 2 - 3 - 5 et 8 : à trois mois, les 10 confrontations sont négatives mais après 5 mois, si les 4 confrontations avec le n° 3 restent négatives, les deux croisements avec le n° 2 sont devenus nettement positifs, tandis qu'avec le n° 5, les deux confrontations montrent seulement une petite zone bouclée d'un aspect différent du reste de la culture; enfin une confrontation sur deux avec le n° 8 montre également une zone bouclée limitée.

– Avec les monospermes $A_1 B_2$ de même pôle que le noyau *D. durum* de H 5 : si toutes les confrontations avec le n° 11 restent négatives, il n'en est pas de même avec le n° 6 (monosperme entrant dans la formule de H 5) une confrontation partiellement positive à 3 mois n'a pu être conservée, 1 autre négative à 3 mois devient nettement positive à 5 mois, enfin deux autres confrontations se sont révélées totalement positives à 3 mois.

– Même avec les monospermes A_2B_1 complémentaires du noyau *D. durum* ayant formé H 5, on observe des irrégularités : le n° 10 n'a été dicaryotisé que 2 fois sur 4 et seulement à 5 mois, le n° 9 par contre donne, à 3 mois, 4 confrontations positives sur 4, 3 portent des fructifications et pour l'une d'elles, les pieds des basides ont pu être vérifiés bouclés. Cette vérification est extrêmement difficile mais nécessaire car le monosperme 9450 n° 9, (comme aussi les n° 11 et n° 8) peut fructifier parthénogénétiquement; il donne des fructifications portant des basides non bouclées à 2 ou le plus souvent 4 stérigmates qui produisent des spores binucléées.

A partir de la fructification bouclée apparue dans le Buller : H 5 x 9450 A_2B_1 n° 9, 30 monospermes isolés ont été vérifiés sans boucles et ensuite confrontés avec les 4 pôles de *D. durum* 9450. L'examen de ces confrontations effectué entre 5 et 7 semaines permet de répartir les monospermes entre les 4 pôles parents.

A_1B_1 : 1 - 5 - 6 - 7 - 11 - 24 - 26
A_1B_2 : 2 - 3 - 4 - 9 - 13 - 14 - 25 - 27 - 28 - 30
A_2B_2 : 8 - 12 - 15 - 16 - 19 - 22 - 23 - 29
A_2B_1 : 18 - 21.

Font exception les n° 10 - 17 - 20. En effet, le n° 10, positif avec A_2B_2, donne des fausses boucles à la fois avec A_1B_1 et A_2B_1. Les n° 17 et 20 donnent des résultats nettement positifs avec A_1B_1 et A_1B_2, mais pour ces deux derniers il pourrait s'agir de «monocaryons impurs» constitués par 2 spores incompatibles ?

Ces premières observations conduisaient à penser que si le noyau *D. durum* de H 5 : 9450 A_1B_2 n° 6 était capable de faire avec 9450 A_2B_1 n° 9, une fructification dont les descendants se comportaient normalement comme les pôles de *D. durum*, ce noyau *D. durum* n'avait donc pas été modifié par son association avec un noyau de *sordulentum*.

Mais les confrontations précédentes, réobservées après 5 mois, ont donné les résultats regroupés dans le Tableau II.

On constate qu'après ce long délai, 17 monospermes sur 30 (ceux qui portent l'astérisque) ont un comportement différent de celui des monocaryons normaux de *D. durum*. Ces résultats permettent d'affirmer que le noyau «*durum*» de H 5 a un comportement anormal. Celui-ci pourrait expliquer les croisements positifs inattendus dans les confrontations di-mon. de H 5 avec les 4 pôles de *D. durum* (y compris le pôle du noyau «*durum*» de H 5 !) et viendrait éclairer les résultats obtenus dans l'étude des fructifications du mycélium H 5 lui-même.

FRUCTIFICATIONS DU MYCÉLIUM HYBRIDE H 5

Avec ce seul mycélium hybride, des fructifications ont été obtenues sur milieu de Nobles dans certaines cultures âgées de 3 mois, et sur bois de hêtre.

Tableau II

Comportement des monospermes, issus de la fructification d'une confrontation en Buller : H 5 x 9450 A_2B_1 n° 9, face aux quatre pôles de *D. durum*.

Behaviour of monosporous cultures obtained from the fructification of a Buller's confrontation : H 5 x 9450 A_2B_1 n° 9, with the four mating types of *D. durum*.

	1	2*	3	4*	5	6	7	8*	9*	10*
A_1B_1 = 1	–	–	–	+ + +	–	–	–	+ + +	+ + +	– ∓ ∓
A_1B_2 = 6	–	–	–	–	–	–	–	– +cr –	–	–
A_2B_2 = 5	+ + +	+ + +	– FB –	–	+ + +	+ + +	+ · +	+ + +	cr + cr	+ + +
A_2B_1 = 9	cr +cr cr	+ + +	+ + +	+ + ∓	– + ∓	–	cr cr cr	–	+ + +	∓ + +

	11	12*	13	14	15	16*	17*	18*	19*	20*
A_1B_1 = 1	–	+ + +	–	–	+ + +	+ + +	+ + +	– cr –	+ + +	+ + +
A_1B_2 = 6	–	+ + +	–	–	–	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ · +
A_2B_2 = 5	+ + +	–	+ ∓ ∓	+ ∓ ∓	–	–	–	+ + ∓	–	–
A_2B_1 = 9	– ∓ –	+ + ∓	+ + +	+ + +	–	–	+ + +	–	+ + ∓	–

	21*	22*	23*	24*	25*	26	27	28	29*	30
A_1B_1 = 1	– cr –	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	–	–	–	+ + +	–
A_1B_2 = 6	· + +	– FB –	–	cr cr cr	+ + +	–	–	–	+ + –	–
A_2B_2 = 5	+ + +	–	+ + +	+ + +	– · –	+ + +	– + –	–	· + +	∓ + –
A_2B_1 = 9	–	+ + –	+ + +	+ + +	+ + +	– cr –	+ + +	+ + +	∓ + –	+ + +

par le Dr R. SIEPMANN de Hann - Münden (RFA)*. Ces dernières ayant l'avantage de pouvoir être conservées en herbier.

Toutes ces fructifications sont semblables et apparaissent sous la forme de petites plages isabelle (7,5 YR 7/4 à 7,6)** ou cannelle pâle (7,5 YR 6,5/4); elles sont très visibles sur les cultures H 5 dont le mycélium aérien est blanc pur. Très riches en spores de 5-5,5-(6) µm de diamètre, montrant dans le Melzer, à côté de quelques grosses verrues amyloïdes, un grand nombre de petits ornements d'une grande finesse, ces fructifications H 5 sporulent pendant un temps relativement court par rapport à celui des fructifications de *D. durum* et *D. sordulentum*. Leurs basides bouclées, à 4 stérigmates, sont très allongées (40)-50-65(70) x 5-5,5 µm, leur base est extrêmement grêle ce qui rend très difficile l'observation de la boucle basale. Agées, elles se vident laissant 3 ou 4 cloisons de retrait. Les sulfocystides, (40)-55-65 x 5 µm, montrent parfois une schizopapille au sommet; leur contenu peut apparaître comme une grosse masse réfringente, leur base bouclée est facile à observer. Les dichophyses ont une hauteur totale de (30)-40-70-(90) µm et une envergure de (30)-40-55-(80)µm; ces tailles sont intermédiaires entre celles de *D. durum* et de *D. sordulentum* (cf. BOIDIN et LANQUETIN 1980). Les spores sont en très grande majorité binucléées avec quelques spores à un noyau. Les hyphes génératrices, hyalines, sont bouclées et binucléées.

Étude des monospermes de H 5

A partir de la sporée produite par la 1ère fructification de H 5 (septembre 1980), 80 monospermes ont été obtenus. A l'âge de 15 jours à 3 semaines, ils sont tous formés d'hyphes sans boucles et produisent des conidies rondes, type

* R. SIEPMANN bien connu pour sa compétence en matière de fructification sur bois, a bien voulu faire des essais avec tous nos mycéliums hybrides, mais comme dans les cultures, seul le mycélium H 5 a fructifié.

** Code de la Munsell Color Company, Baltimore, U.S.A. «Munsell soil color charts», 1954.

Légende du Tableau II

+ : boucles constantes; ∓ : boucles nombreuses localement; cr : crochets; FB : fausses boucles.
Quand figurent 3 signes pour une confrontation : les signes du milieu, du haut et du bas correspondent à l'observation de prélèvements effectués respectivement sur la ligne de contact, sur le territoire du monosperme de la colonne verticale et sur le territoire du monosperme de la colonne horizontale.

+ : constant clamp connections; ∓ : numerous clamps locally; cr : incomplete clamps; FB : false clamps.
When three results are indicated for a confrontation the one in the middle is that obtained for the contact zone, the one in the upper right hand corner is that for the monosporous culture indicated in the vertical column and the one in the lower left hand corner is that for the other monosporous culture of the confrontation which is listed to the left of the table.

D. durum, de diamètre 3-(3.5-4) µm. L'étude cytologique de 5 d'entre eux révèle que leurs hyphes sont constitués en majorité d'articles uninucléés avec quelques terminaux montrant 2-3-(5) noyaux. Des conidiophores plurinucléés portent des conidies uninucléées qui germent en donnant des hyphes sans boucles aux articles uninucléés ou très faiblement cénocytiques.

Dix monospermes ont été appariés deux à deux pour établir leur polarité, un mois plus tard toutes les confrontations étaient positives.

Les 80 cultures monospermes réobservées, alors âgées de deux mois, présentent pour la plupart des boucles, au moins localement mais une vingtaine se montrent totalement dépourvues de boucles ou de crochets. Des observations ultérieures, sur lames gélosées, ont permis de voir qu'elles aussi bouclaient lentement. En outre, les 5 monospermes dont les noyaux avaient été colorés, sont maintenant totalement binucléés-bouclés.

30 monospermes isolés à partir de la 2ème fructification H 5, 30 monospermes de la 3ème fructification H 5 et 10 monospermes obtenus à partir de la fructification sur bois (laquelle a très peu sporulé après son transport à Lyon) ont conduit aux mêmes résultats. Les cultures monospermes âgées de 1 mois sont totalement dépourvues de boucles ou de crochets qui apparaissent après un délai plus ou moins long, le plus souvent de deux mois.

Les descendants de l'hybride H 5 ont donc un comportement homothalle qui diffère totalement de l'hétérothallie tétrapolaire des deux espèces ayant formé l'hybride.

L'observation répétée des 150 monospermes de H 5, dont 50 ont été étudiés sur lame gélosée, permet de dire qu'en très grande majorité ils produisent des conidies rondes. 5 seulement, dont le nº 2, ont montré les deux types de conidies.

Étude des monoconidiens du monosperme H 5 nº 2

Ce monosperme bouclé (comme les autres) semble bien posséder les deux types de conidies avec une nette dominante de conidies rondes. Après dispersion de ces conidies, 60 prélèvements sont effectués sur 6 jours. L'examen des monoconidiens montre déjà la présence de crochets dans certaines cultures âgées de 15 jours. Ensuite 18 cultures seront bouclées à un mois, 30 à 1 mois et demi, et les autres boucleront plus tardivement, souvent incomplètement et après plusieurs repiquages.

Bien qu'uninucléées, les conidies des monospermes donnent des cultures dont le comportement répète celui des monospermes, c'est-à-dire que le noyau unique peut donner naissance à un dicaryon.

Il faut rappeler que la culture de *D. rhodosporum* (Wakef.) Cunn. reçue de Warcup (nº T 433 originaire du sol en Australie) avait ce même comportement. Les cultures monoconidiennes ne permettaient pas d'isoler des cultures monocaryotiques nécessaires aux intercompatibilités (LANQUETIN 1973), car elles se bouclaient lentement. Toutefois la fructification en milieu stérile de T 433 permit d'obtenir des monospermes monocaryotiques et d'établir la tétrapolarité

de ce *Dichostereum*. On pouvait se demander s'il en serait de même ici.

Étude de la croissance des monospermes issus de H 5

9 monospermes mis sur milieu de Nobles à 24°C, remplissent les boîtes en 5 ou 6 semaines comme H 5.

Aspect : le mycélium aérien est blanc pur, finement pelucheux avec quelques zones subfeutrées de mycélium plus dense, ou grumeleuses légèrement teintées de crème pâle. Le mycélium ne cache pas totalement le milieu.

Microscopie : le mycélium aérien est formé d'hyphes régulières, étroites, de 1,2-2 µm, à paroi mince, bouclées. Les conidiophores sont en majorité à conidies sphériques mais il y a parfois des conidies ovoïdes. Les plages qui présentent du mycélium aérien montrent quelquefois de grands secteurs où les hyphes sont dépourvues de boucles et ne possèdent pas de dichophyses. Par contre, les plages lisses, pratiquement dépourvues de mycélium aérien, ont des hyphes de 1,5-2 µm, régulières, à boucles constantes, quelques chlamydospores, des sulfocystides et quelques fibres congophiles, dichophytiques, grêles, souples, ⩽ 1 µm. Les gloeocystides, 43-65 x 1,5-2 µm, possèdent généralement 3 à 5 papilles. Le mycélium submergé est formé d'hyphes de 1,5-4 µm, bouclées; cependant bien des boucles semblent mal fermées.

Oxydases : les monospermes testés ont tous une forte réaction positive sur milieu à l'acide gallique (+++++, O) comme sur gaïacol (+++++, tr.) et une réaction négative sur paracrésol et tyrosine.

Étude des fructifications des descendants issus de H 5

Plusieurs cultures monospermes issues de H 5 ont à leur tour fructifié à l'âge de 3 mois. Elles ont donné :

– ***une fructification sans boucles :***

descendant n° 3 : sa fructification ne donne pas de sporée visible dans le couvercle, mais contient de nombreuses spores faiblement ornées, de grosses gloeocystides, 80 x 9-10-(11) µm, avec masse subsolidifiée, des dichophyses hautes de 100 µm. Quelques basides à 4 stérigmates, et dont le pied a pu être dégagé, sont dépourvues de boucles.

– ***des fructifications montrant quelques boucles sur certaines dichophyses***

descendant n° 6 : la fructification ne donne pas de sporée dans le couvercle et montre peu de basides et peu de spores. Il a été impossible de voir le pied d'une baside avec certitude (même après traitement ammoniacal à 60°C). Beaucoup de dichophyses semblent dépourvues de boucles à la base mais dans quelques cas une boucle a été observée avec certitude.

descendant n° 8 : il a fructifié dans deux boîtes de Pétri sur milieu de Nobles. Les fructifications donnent dans le couvercle une faible sporée qui montre des spores ornées, de 4,5-5 µm de diamètre. En coupe, sont observées : 1) de très nombreuses, longues et grêles basides tétrasporiques, 60-85 x 4,5-5 µm au sommet, à base très étroite, de 1,75 µm, sans boucles. 2) des gloeocystides longue-

ment fusiformes avec papille sommitale mesurant 90 x 8–9 µm au renflement et d'autres obtuses, dépourvues de papille, 60-80 x 8-9 µm, ayant un contenu solidifié et une paroi un peu ferme. 3) des dichophyses à base généralement non bouclée, toutefois dans de rares cas, une boucle a été observée avec certitude.

Les hyphes mycéliennes sous-jacentes, reconnaissables à leurs gloeocystides multipapillées sont bouclées.

– ***une fructification bouclée :***

descendant nº 7 : bien que montrant de grandes plages aux hyphes régulières sans boucles au cours de l'étude de la vitesse de croissance, il a donné une petite fructification qui ■ produit une légère sporée recueillie sur une lamelle stérile. Observée à un stade jeune, cette fructification a pu être bien dilacérée, les basidioles nombreuses, sont bouclées, les basides tétrasporiques, 55-80 x 4,5-5 µm, ont une base indiscutablement bouclée, les gloeocystides ont leur cloison basale bouclée et possèdent une papille au sommet; les dichophyses ont également une boucle à leur base. Les hyphes mycéliennes sont à boucles constantes.

Étude des descendants des fructifications des monospermes 7 et 8 de H 5

Les sporées obtenues ont permis d'isoler les monospermes des fructifications de deux types : à boucles limitées à quelques dichophyses (nº 8) et à boucles constantes (nº 7).

Descendants de la fructification du monosperme nº 8 de H 5

68 germinations sont prélevées deux jours après la dispersion des spores, 3 semaines plus tard toutes se sont bien développées et 30 d'entre elles présentent des boucles ou des crochets. Les 38 autres sont repiquées et bouclent progressivement.

Descendants de la fructification bouclée du monosperme nº 7 issu de H 5

50 germinations ont été isolées 3 jours après la dispersion des spores. Toutes se sont bouclées plus ou moins rapidement et après plusieurs repiquages.

Dans les deux cas les cultures monospermes bouclent peu à peu. L'homothallie apparue lors de la 1ère fructification de l'hybride H 5 se maintient après les fructifications de la génération suivante.

DISCUSSIONS

Des myceliums hybrides interspécifiques stables et instables ont été plusieurs fois obtenus, par exemple par NOBLES et FREW (1962) avec des *Pycnoporus*, EDWARDS et KENNEDY (1973) avec des *Coriolus*, DAVID et coll. (1974) avec des *Auriporia*, BRUEHL et coll. (1975) avec des *Typhula*, BOIDIN et LANQUETIN (1977 b) avec des *Peniophora*, et KORHONEN (1978) avec deux espèces jumelles S et T de *Heterobasidion* supra-species *annosum*.

Nous avons voulu dans ce travail poursuivre l'étude de ces mycéliums hybrides car *Dichostereum durum* et *D. sordulentum* présentent l'avantage de former des conidies uninucléées sur leurs dicaryontes et de plus, la fructification de ces deux espèces ayant été obtenue au laboratoire, nous pouvions espérer celle des mycéliums hybrides. Pour les six mycéliums hybrides H 1 à H 6, nous avons ci-dessus présenté successivement les résultats détaillés obtenus :

I : par isolement de monoconidiens monocaryotiques et leurs croisements,

II : par confrontation di-mon. entre le mycélium hybride et les monocaryons des espèces parentes.

I - ISOLEMENT DE MONOCONIDIENS MONOCARYOTIQUES

LANQUETIN (1973) a tenté 5 fois d'obtenir des monoconidiens de pôles complémentaires à partir de dicaryons de plusieurs *Dichostereum*. Deux fois elle n'a obtenu qu'un seul pôle (avec 40 monoconidiens de *D. granulosum* et 45 de *D. ramulosum*) mais pour les trois autres cas, deux pôles ont été obtenus dans des proportions très variables (1 et 20 avec *D. rhodosporum*, 13 et 87 avec *D. ramulosum*, 16 et 24 avec *D. granulosum*).

Les monoconidiens de H 1, H 2, H 3, H 5 ont tous toujours été compatibles avec *D. sordulentum*, soit avec le pôle complémentaire de celui présent dans l'hybride lorsque nous le possédions, soit avec les monocaryons de deux autres récoltes géographiquement éloignées. Le noyau de *sordulentum* est donc présent dans les hybrides et aisément isolé lors de la conidiation.

Les néohaplontes de H 5, obtenus sur milieu à la bile, révèlent ce même noyau de *sordulentum*. De même, la culture hybride H 6 débouclée naturellement comme les monoconidiens qui en proviennent sont compatibles avec les monocaryons de *D. sordulentum*.

La culture hybride H 4, instable et redevenue sans boucles forme des conidies de type *D. durum* mais cependant tous les monoconidiens isolés à partir de cette culture possèdent comme ci-dessus un noyau de *sordulentum*.

S'il est possible d'espérer obtenir les deux types de mycélium monocaryotiques par dispersion de conidies formées sur un mycélium dicaryotique, le fait de n'obtenir ici qu'un des deux noyaux supposés présents pourrait être dû :

a) à la mauvaise germination des conidies du type *D. durum* ou à la mortalité des jeunes monoconidiens de ce type. En effet, 40 jeunes germinations de conidies de H 1 observées en place, n'ont pas poursuivi leur développement. Par ailleurs, les prélèvements ont permis d'obtenir avec H 1 : 86 cultures sur 200 prélèvements, avec H 2 : 29 sur 40 puis 61 sur 67, avec H 3 : 27 sur 50, mais avec H 5 : 79 sur 80.

b) à la montée exclusive d'un des noyaux dans les conidies, comme l'a déjà observé KORHONEN (1978) sur 99 monoconidiens isolés d'un mycélium dicaryotique hybride (de *Heterobasidion* supra sp. *annosum* espèces P et S) qui possédaient tous le même noyau.

II - UTILISATION DU PHÉNOMENE DE BULLER

N'ayant pu prouver par l'isolement de monoconidiens la présence des noyaux des deux partenaires, on pouvait espérer y parvenir par des confrontations di-mon. entre le mycélium hybride et les monocaryons des espèces parentes. Le noyau de *durum* supposé présent dans l'hybride dicaryotiserait les mycéliums *D. durum* haploïdes de pôle complémentaire; de même pour le noyau de *sordulentum.*

En fait, les mycéliums hybrides stables H 1 - H 2 - H 3 - H 5 et le mycélium H 4 stabilisé, ne dicaryotisent pas ou très rarement et alors très mal et très tard, les monocaryons de *D. sordulentum*. Par contre, ils dicaryotisent rapidement les monocaryons de *D. durum* complémentaires du noyau de *durum* qu'ils possèdent. Ce qui laisserait entendre que le noyau *D. durum* cohabite bien avec le noyau de *sordulentum* dont l'existence a été prouvée par le biais des monoconidiens mais qui ne se manifeste pas ici. En outre, les mycéliums hybrides dicaryotisent plus ou moins bien d'autres pôles de *durum* y compris parfois le pôle de *durum* qu'ils contiennent :

Par exemple : H 2 (*durum* 9450 A_1B_1 x *sordulentum* 6627 A_1B_2) dicaryotise rapidement 9450 A_2B_2 et plus tardivement parfois seulement localement 9450 A_2B_1 et A_1B_2. H 5 (*durum* 9450 A_1B_2 n° 6 x *sordulentum* 6770/A) dicaryotise rapidement le monosperme 9450 A_2B_1 n° 9 et très lentement certains monospermes 9450 A_1B_1, A_2B_2. En outre deux fois sur quatre il dicaryotise assez rapidement A_1B_2 n° 6 !

Deux hypothèses peuvent être formulées :

1) les mycéliums hybrides donnent bien à l'haplonte *D. durum* un noyau de *durum* mais un noyau modifié dont les facteurs de polarité ont perdu partiellement leur rôle.

2) des mycéliums hybrides se reconstituent en appariements di-mon. grâce au transfert du noyau de *sordulentum* dans divers haplontes *D. durum*. On peut alors s'étonner :

a) que la formation d'hybrides soit beaucoup plus facile et fréquente en appariements di-mon. qu'entre monocaryons. Par exemple dans les appariements di-mon. avec H 5, le noyau de *sordulentum* 6770/A donnerait des hybrides avec 9450 A_2B_2 n° 2, n° 5 et n° 8 qui n'ont jamais formé d'hybrides dans les croisements entre monocaryons. De même dans les appariements di-mon. avec H 3, le noyau de *sordulentum* 6627 A_1B_2 n° 9 formerait un hybride avec 9450 A_1B_2 n° 11, ce qui n'a jamais été obtenu par le croisement de ces deux monocaryons.

b) que le noyau *D. sordulentum* de l'hybride qui dicaryotiserait ici aisément *D. durum*, ne dicaryotise pratiquement pas les monocaryons *D. sordulentum* complémentaires.

Il est difficile de choisir actuellement entre ces deux hypothèses, le seul fait que H 5 dicaryotise A_1B_2 n° 6 qu'il contient, mais pas son homologue A_1B_2 n° 11, laisserait supposer que le noyau *D. sordulentum* de H 5 refait un mycé-

lium hybride avec le même partenaire (hypothèse 2). Toutefois la première hypothèse peut être appuyée par le fait que l'hybride H 5 qui contient 9450 A_1B_2 a donné un mycélium fructifère avec 9450 A_2B_1 nº 9 son complémentaire; que la descendance s'est révélée normale (tétrapolaire) après 5 à 7 semaines mais a donné ensuite à 5 mois, pour plus de 50 % des monocaryons utilisés, des résultats positifs avec plusieurs pôles (cf. tableau II) ce qui pourrait être dû à la modification des gènes de polarité supposée dans cette hypothèse 1. Seule l'utilisation de mutants auxotrophes permettrait d'approfondir encore cette étude.

Ces résultats confirment cependant que *D. durum* et *D. sordulentum* sont des espèces distinctes pratiquement isolées génétiquement même dans les conditions «forcées» du laboratoire.

Le mycélium hybride H 5, qui se comporte comme les autres mycéliums hybrides stables, a en outre fructifié plusieurs fois. Des boucles ont été vues au pied des basides et nous avons là un des tout premiers cas, si ce n'est le premier, de fructification d'un hybride interspécifique chez les Basidiomycètes saprophytes. Le basidiome montre des dichophyses de taille intermédiaire entre celles des deux parents et des basides à 4 spores binucléées. Les 150 isolements monospores montrent des conidies de type *D. durum* et sont d'abord sans boucles, mais après 7 à 8 semaines, les boucles sont présentes dans toutes ces cultures. Le comportement ici homothalle lent n'est ni celui de *D. durum*, ni celui de *D. sordulentum*.

Les monoconidiens issus des cultures monospermes sont comme eux bouclés après quelques semaines. Les fructifications de quelques cultures monospermes qui sont soit à basides bouclées, soit à basides sans boucles, donnent à leur tour des monospermes qui se bouclent lentement.

On constate que le dérèglement provoqué par l'hybridation ne se corrige pas à la deuxième génération.

*

* *

The genus *Dichostereum* Pilat sensu BOIDIN et LANQUETIN (1977) contains heterothallic tetrapolar species which are easily cultivated and produce uninucleate conidia on the secondary mycelium. These conidia facilitate easy isolation of one of the nuclei of the dikaryon (i. e. monokaryotic monoconidial mycelia) but as previously shown (LANQUETIN 1973) two types of compatible monokaryons can be obtained in very unequal proportions.

The eight species, cultivated up to now, have revealed on the whole a complete interincompatibility. These results have clarified the discussed systematics of this genus.

We reported (BOIDIN et LANQUETIN 1980) that the American *Dichostereum sordulentum* (= *Vararia* aff. *dura* in LANQUETIN 1973) gave few clamped hybrid mycelia when paired with the French *Dichostereum durum*. The study of hybrid mycelia*D. sordulentum* x *D. durum* is presented in detail in this paper.

D. durum produces spherical conidia and is tyrosinase negative, while *D. sordulentum* produces ovoid conidia and is tyrosinase positive. Both species fructify quite easily in the laboratory on a nutrient medium (Malt and Difco Agar) but they may loose this property after some years.

Hybrid mycelia grow twice as slowly than their parents and are tyrosinase negative. they produce the two types of conidia (on the same mycelium) even though the one type very often clearly dominates.

H 1, H 2, H 3 and H 5 are stable hybrid mycelia; H 4 and H 6 loose their clamps. For the six hybrid mycelia, we have given detailed results obtained by :

I : isolation of monoconidial monokaryotic mycelia and their matings.

II : di-mon. confrontations between the hybrid mycelium and monokaryotic mycelia of the two parent species.

I - ISOLATION OF MONOCONIDIAL MONOKARIOTIC MYCELIA

Monoconidial mycelia of H 1, H 2, H 3 and H 5 are always intercompatible with *D. sordulentum* either with the compatible pole of the one present in the hybrid mycelium when available or with monokaryotic mycelia of two other collections geographically distant. The nucleus of *sordulentum* is therefore present in hybrid mycelia and easily isolated at the time of conidiation.

Neohaploid mycelia of H 5, obtained on oxgall medium possess the same nucleus that of *sordulentum*. In the same way, the hybrid culture H 6 having naturally lost its clamps-connections, and the monoconidial mycelia originating from this unclamped mycelium H 6, are compatible with the monokaryotic mycelia of *D. sordulentum*. The instable hybrid culture H 4, became clampless, produced conidia of the same type as those of *D. durum* but nevertheless all monoconidial mycelia isolated possessed one nucleus of *sordulentum*.

It is hoped to obtain the two types of monokaryotic monoconidial mycelia by dispersion of conidia borne by the secondary mycelium. The fact that we only obtained one of the two nuclei, supposedly present, could be due to :

a) poor germination of the *durum* type of conidia or the high death rate of young monoconidial mycelia of this type.

b) the exclusive migration of one single nucleus into the conidia, as already observed by KORHONEN (1978) with 99 monoconidial cultures (isolated from the dikaryotic hybrid mycelium of *Heterobasidion* supra species *annosum* species S and T) which all possessed the same nucleus.

II - USE OF BULLER'S PHENOMENON

As the presence of the nuclei of the two partners in the hybrid mycelium has not been proved by studying monoconidial isolates we have tried to demonstrate it by means of di-mon. confrontations between the dikaryotic hybrid mycelium and monokaryotic mycelia of the parent species. In this case the «*durum*» nucleus of the hybrid would dikaryotize the haploid mycelia of *D.*

durum having a compatible pole, and the «*sordulentum*» nucleus would do the same thing.

In fact the stable hybrid mycelia H 1, H 2, H 3. H 5 and the stabilized hybrid H 4, do not dikaryotize the monokaryotic mycelia of *D. sordulentum* or else very rarely and then, imperfectly and very late. On the other hand, they dikaryotize quite quickly the monokaryotic mycelia *D. durum* compatible with the nucleus that they contain.

These results suggest that the nucleus of *durum* effectively cohabits with the nucleus of *sordulentum* the presence of which has been proved by means of monoconidial cultures but which is not revealed here by di-mon. confrontations. In addition the hybrid mycelia dikaryotize more or less, some other poles of *D. durum* including sometimes the same one that they contain themselves.

For example. H 2 (*D. durum* 9450 A_1B_1 n° 1 x *D. sordulentum* 6627 A_1B_2) dikaryotizes quickly 9450 A_2B_2 and later. sometimes only localy, 9450 A_2B_1 and A_1B_2; H 5 (*D. durum* 9450 A_1B_2 n° 6 x *D. sordulentum* 6770/A) dikaryotizes 9450 A_1B_2 n° 9 very quickly and some monosporous cultures 9450 A_1B_1 and A_2B_2 very slowly. But it also dikaryotizes A_1B_2 n° 6 two times out of four rather quickly.

Two hypotheses can be formulated :

1) the hybrid mycelia give to the monokaryotic mycelia of «*durum*» a «*durum*» nucleus but a «modified» nucleus whose factors of polarity have partially lost their fonction.

2) the hybrid mycelia are formed again in di-mon. confrontations due to a transfer of a nucleus of *sordulentum* to various haploid mycelia of *D. durum*.

Considering to the second hypothesis it is surprising that :

a) formation of hybrid mycelia occurs more easily and more frequently in di-mon. matings than between monokaryotic mycelia. For instance : in di-mon. matings with H 5 the nucleus of *sordulentum* 6770/A would give hybrid mycelia with 9450 A_2B_2 n° 2. n° 5 and n° 8, that never formed hybrid mycelia in matings between monokaryotic mycelia.

b) the «*sordulentum*» nucleus of one hybrid mycelium which here would easily dikaryotize a nucleus of *D. durum* hardly ever produces dikaryons with the compatible monokaryotic mycelia of *D. sordulentum*.

At the moment, it is difficult to choose between these two hypotheses. However the first one can be supported by the fact that the hybrid mycelium H 5 containing 9450 A_1B_2 formed a fructification in culture with its compatible pole 9450 A_2B_1 n° 9 and that the progeny showed, after 5 or 7 weeks, normal tetrapolar behaviour, but after 5 months, more than 50 % of the monokaryotic mycelia used were giving positive results with different poles (cf. Table II). This could be due to the modification of polarity genes as suggested in hypothesis n° 1.

All these results confirms that *D. durum* and *D. sordulentum* are two distinct species which are almost completely genetically distinct even under the «forced» conditions of the laboratory.

The hybrid mycelium H 5 which behaves as other stable hybrid mycelia, has produced fructifications several times. Clamps have been observed at the base of the basidia and here we can see one of the first cases, if not the first, of fructification of an interspecific hybrid in the saprophytic Basidiomycetes. The fruit-bodies H 5 show dichophyses of a size intermediate between those of two parents and basidia bearing four binucleate spores.

The 150 monosporous cultures observed produce conidia of *«durum»* type and were at first without clamp-connections but after 7 or 8 weeks, clamps were present in all these cultures. This slow homothallic behaviour corresponds neither to that of *D. durum* nor that *D. sordulentum*.

Monoconidial cultures originating from monosporous cultures were, similarly clamped after some weeks. Fruit-bodies of some monosporous cultures have either clamped basidia or unclamped basidia, but they also produce monosporous cultures where clamp-connections always appear slowly. Finally we can say that this irregular sexual behaviour caused by hybridation is not corrected at the time of the second generation.

REMERCIEMENTS

Pour l'envoi de spécimens ou de cultures sans lesquels ce travail n'aurait pu être effectué, nos remerciements s'adressent à A. DAVID, M. DUVERGER et F. LOMBARD. Nous exprimons notre sincère gratitude au Dr R. SIEPMANN de Hann-Münden, RFA qui a bien voulu, à notre demande, essayer d'obtenir sur bois la fructification de nos myccéliums hybrides.

BIBLIOGRAPHIE

BOIDIN J. & LANQUETIN P., 1977 a - Les genres *Dichostereum* et *Vararia* en Guadeloupe (Basidiomycètes Lachnocladiaceae). *Mycotaxon* 6 : 277-336.

BOIDIN J. & LANQUETIN P., 1977 b – *Peniophora* (subg. *Duportella) malençonii* nov. sp. (Basidiomycètes Corticiaceae), espèce méditerranéenne partiellement interstérile avec son vicariant californien. *Rev. de Mycol.* 41 : 119-128.

BRUEHL G.W., MACHTMES R. et KIYOMOTO R., 1975 – Taxonomic relationships among *Typhula* as revealed by mating experiments. *Phytopath.* 65 : 1108-1114.

DAVID A., TORTIC M. et JELIC M., 1974 – Étude comparative de deux espèces d'*Auriporia*, *A. aurea* (Peck.) Ryv. espèce américaine et *A. aurulenta* nouvelle espèce européenne. Compatibilité partielle de leur mycélium. *Bull. Soc. Mycol. France*, 90 : 359-370.

EDWARDS R. et KENNEDY L.L., 1973 – Biosystematics of *Coriolus hirsutus and C. pubescens*. I - Interfertility studies. *Can. J. Bot.* 51 : 2385-2393.

KORHONEN K., 1978 – Intersterility groups of *Heterobasidion annosum*. *Comm. Inst. Forest. Fenn.* 94 : 1-25.

LANQUETIN P., 1973 – Utilisation des cultures dans la systématique des *Vararia* Karst. subg. *Dichostereum* (Pilat) Boid. (Basidiomycètes Lachnocladiaceae). *Bull. Soc. Linn. Lyon*, 42 : 167-192.

NOBLES M.K. et FREW B.P., 1962 – Studies in wood-inhabiting Hymenomycetes. V. The genus *Pycnoporus* Karst. *Can. J. Bot.* 40 : 987-1016.